

ALGAE SPIRULINA SP. OIL EXTRACTION METHOD USING THE OSMOTIC AND PERCOLATION AND THE EFFECT ON EXTRACTABLE COMPONENTS

Orchidea Rachmaniah, Elfera Yosta R., Danang Harimurti W.

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Abstract

Alga dipandang sebagai bahan baku baru yang berpotensi menghasilkan minyak dengan jumlah yang cukup besar. Selain itu, minyak alga tidak bersaing sebagai komoditi pangan. Spirulina Sp. atau ganggang hijau-biru dipilih dikarenakan waktu panennya sangat singkat dan memiliki kandungan lipid cukup tinggi dibandingkan dengan jenis alga yang lain. Selain itu karakteristik kondisi lingkungan tempat hidup Spirulina Sp. sesuai dengan kondisi cuaca di Indonesia, yaitu pH cenderung basa, suhu 20-40°C. Metode osmotik dipilih mengingat Spirulina Sp. adalah makhluk hidup mikrokopis multi sel yang memiliki membran semipermeabel yang rentan terhadap perubahan tekanan osmotik. Asam klorida dipilih sebagai pelarut karena kedua jenis larutan diatas memiliki tekanan osmotik cukup tinggi sehingga dapat dengan mudah merusak membran semipermeabel yang ada. Metode perkolasi juga dipilih sebagai salah satu metode pembanding, dimana metode ini banyak digunakan sebagai metode rujukan untuk merecovery senyawa-senyawa atsiri bernilai tinggi dibidang farmasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi minyak alga dengan pelarut etanol (99,8%) (77,236%-berat) memberi yield minyak lebih besar dibandingkan dengan pelarut HCl 5 M (71,218%-berat). Semakin banyak volume pelarut yang digunakan, semakin lama waktu pengadukan, dan semakin tinggi molaritas larutan maka semakin meningkat perolehan yield minyak. Kadar air pada fase hidroalkoholik dan waktu perendaman mempengaruhi perolehan yield minyak untuk pelarut etanol (99,8%). Kadar air 37,63% pada fase hidroalkoholik memberi yield minyak sebesar 76,584%-berat. Jenis pelarut yang digunakan turut mempengaruhi komposisi komponen-komponen terekstrak, khususnya FA, MG, GD, dan TG, dan komponen zat warna Spirulina Sp. yang terekstrak.

Keywords : *Alga; Ekstraksi; Osmotik; Perkolasi; Spirulina Sp.; Minyak alga.*

Pendahuluan

Pertambahan populasi dunia dan peningkatan kebutuhan manusia seiring dengan berkembangnya zaman, mengakibatkan peningkatan kebutuhan akan energi khususnya energi yang tidak dapat diperbaharui (*Unrenewable Energy*). Mengingat keterbatasan dan kelangkaan cadangan minyak bumi di masa datang mendorong kita untuk mencari berbagai cara penghematan pemakaian minyak bumi serta menciptakan energi alternatif pengganti minyak bumi.

Program konservasi dan diversifikasi energi seperti alkohol, gasohol, minyak nabati telah dilakukan secara intensif oleh beberapa negara untuk menghadapi tantangan berupa keterbatasan kandungan minyak bumi tersebut. Pemerintah Indonesia menetapkan kebijakan pemakaian biodiesel sebesar 2% dari konsumsi solar pada tahun 2010. Ini berarti diperlukan 720.000 kiloliter biodiesel bila konsumsi solar dalam negeri 36 juta kiloliter per tahun (www.bppt.go.id). Produksi biodiesel di Indonesia saat ini masih dalam tahap pengembangan. BPPT sudah memproduksi biodiesel sebesar 1,5 ton/hari di kawasan Puspipetek Serpong, Jawa Barat. Bulan April 2006 PT. Bakrie Rekin Nio Energi telah memulai pendirian pabrik biodiesel dengan kapasitas 100 ribu ton/tahun (setara 113.895 kiloliter/tahun) dengan

investasi senilai USD 25 juta. Hal ini berarti, pemenuhan kebutuhan biodiesel sebagai pengganti solar masih belum terpenuhi.

Proses produksi biodiesel yang dikembangkan saat ini, umumnya, dibuat dari minyak nabati (minyak kedelai, *canola oil*, *rapeseed oil*, *crude palm oil*), lemak hewani (*beef tallow*, *lard*, lemak ayam, lemak babi) dan bahkan dari minyak goreng bekas (*yellow grease/rendered greases*) (Davies, 2005). Status perkembangan industri biodiesel di Indonesia sendiri hingga saat ini cukup menggembirakan. Hingga September 2006 di Indonesia, telah terdapat tujuh perseroan terbatas yang telah memproduksi biodiesel dengan kapasitas 500 L/hari-36000 ton/tahun diantaranya: PT Ganesha Energi berkolasi di Medan, PT Eterindo Wahanatama Tbk. berkolasi di Gresik dan Cikupa, PT Bumi Asih berkolasi di Bekasi dengan kapasitas produksi, berturut-turut, 6000 ton/tahun, 100.000 ton/tahun dan 36.000 ton/tahun (Rekayasa Industri, 2006). Produksi biodiesel di Indonesia hingga saat ini masih berbasis *crude palm oil* dan turunannya dimana biaya bahan baku memberikan kontribusi sebesar 70% ke biaya produksi (Rahmadi, 2007). Sedangkan pengembangan biodiesel berbasis minyak jarak belum menjanjikan secara komersial

karena kualitas mutu biodieselnnya belum terjamin (Rekayasa Industri, 2006). Mengingat harga *crude palm oil* yang semakin mahal, perlu dipikirkan alternatif bahan baku lain yang dapat menekan biaya produksi.

Indonesia sebagai negara kepulauan dengan 2/3 wilayahnya adalah lautan dengan garis pantai terpanjang di dunia, 80.791,42 km (www.energi.lipi.go.id). Indonesia kaya akan sumber daya hayati perairan yang melimpah baik dari jenis maupun jumlah, salah satunya adalah alga. Sejauh ini, pemanfaatan alga sebagai komoditi perdagangan atau bahan baku industri masih relatif kecil jika dibandingkan dengan keanekaragaman jenis alga yang ada di Indonesia. Padahal komponen kimiawi yang terdapat dalam alga sangat bermanfaat bagi bahan baku industri makanan, kosmetik, farmasi dan lain-lain (www.energi.lipi.go.id). Keuntungan lain yang dimiliki oleh alga didalam budidayanya adalah tidak diperlukannya peralatan pertanian, seperti didarat, tanpa penyemaian benih, gas CO₂ yang dihasilkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar dan adanya pengambilan hasil panen yang kontinyu mengingat singkatnya waktu tanam alga (Soerawidjaja, 2005). Keunggulan alga dibandingkan bahan nabati lain adalah proses pengambilan minyak dilakukan tanpa penggilingan dan langsung diekstrak dengan bantuan zat pelarut (ekstraksi CO₂, ekstraksi ultrasonik, dan osmotik). Prediksi Schultz (2006) akan dihasilkan minyak alga sebesar 7660 liter untuk setiap hektarnya. Angka tersebut lebih besar dibandingkan dengan minyak nabati yang dihasilkan dari tumbuhan-tumbuhan dengan luas lahan yang sama. *Spirulina* Sp., salah satu jenis *cyannobacteria*/ganggang hijau biru, tidak terpengaruh oleh kondisi lingkungan yang fluktuatif khususnya kondisi fisik dan kimiawi lingkungan seperti: intensitas cahaya, suhu air, *salinity* dan keterbatasan akan nutrisi (Oliveira et. al., 1999). Suhu lingkungan merupakan salah satu faktor yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan *Spirulina* Sp. Selain itu, suhu lingkungan juga turut mempengaruhi peningkatan kadar lipid pada *Spirulina* Sp. Peningkatan suhu hingga 35°C pada *Spirulina* maxima akan meningkatkan kandungan asam linolenat hingga 11-16% dibandingkan dengan *Spirulina* plantesis, peningkatan kandungan asam hanya mencapai 12-14% untuk peningkatan suhu hingga 30°C (Oliveira et. al., 1999).

Hingga saat ini minyak alga sebagai bahan baku alternatif pembuatan biodiesel masih sebatas wacana yang perlu dikaji dan ditelaah secara mendalam untuk selanjutnya dapat dikembangkan menjadi bahan baku alternatif pembuatan biodiesel. Berdasar latar belakang yang telah diuraikan di atas dan untuk menjawab kebutuhan BBM yang besar

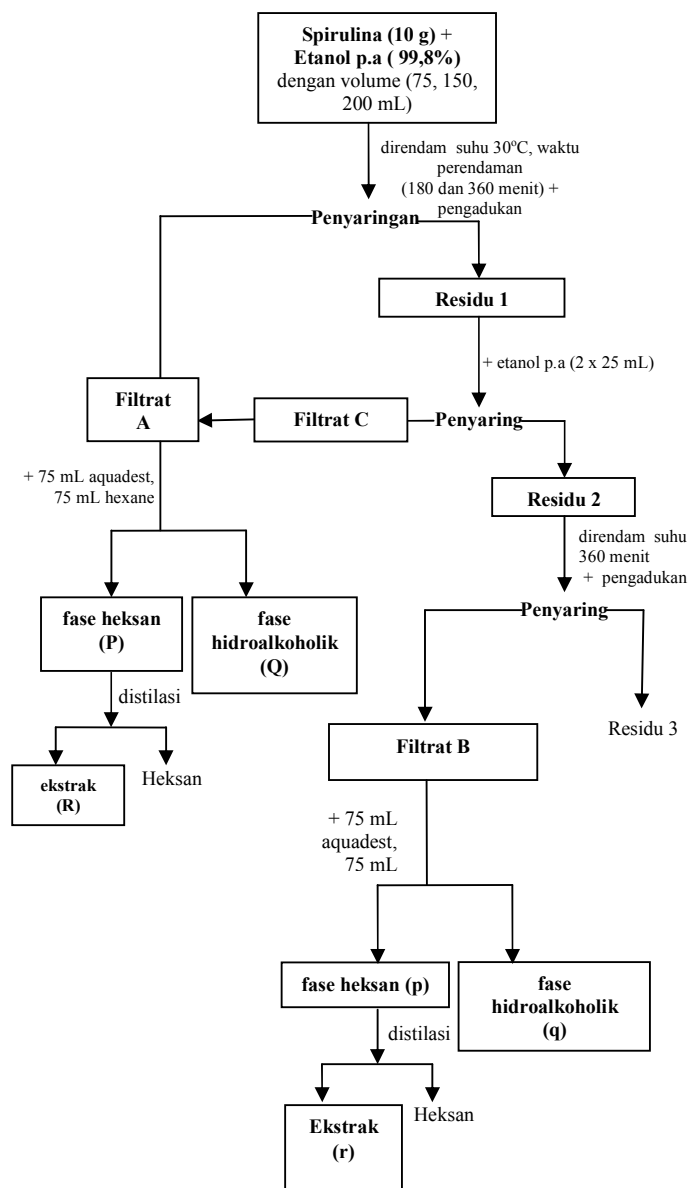
dimasa datang diperlukan diversifikasi energi dengan mengoptimalkan pemanfaatan sumber daya alam yang dimiliki oleh bangsa Indonesia. Direncanakan untuk penelitian mencari bahan baku alternatif pembuatan biodiesel dengan menggunakan alga jenis *Spirulina* Sp. *Spirulina* Sp. dipilih dikarenakan waktu panennya sangat singkat, dan memiliki kandungan lipid cukup tinggi dibandingkan jenis alga yang lain (Oliveira et. al., 1999). Selain itu karakteristik kondisi lingkungan untuk tempat hidup *Spirulina* Sp. sesuai dengan kondisi cuaca di Indonesia, yaitu pH cenderung basa, suhu 20-40°C (Oliveira et. al., 1999). Metode osmotik dipilih mengingat *Spirulina* Sp. adalah makhluk hidup mikrokopis multi sel yang memiliki membran semipermeabel yang rentan terhadap perubahan tekanan osmotik. Asam klorida dipilih sebagai pelarut karena kedua jenis larutan diatas memiliki tekanan osmotik cukup tinggi sehingga dapat dengan mudah merusak membran semipermeabel yang ada. Metode perkolasi juga dipilih sebagai salah satu metode pembanding, dimana metode ini banyak digunakan sebagai metode rujukan untuk *merecovery* senyawa-senyawa atsiri bernilai tinggi dibidang farmasi (Pramparo, et. al., 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode yang tepat untuk mengekstrak minyak alga dari *Spirulina* sp. dengan mevariasikan metode ekstraksi (perkolasi dan osmotik), jenis pelarut, volume pelarut dan waktu ekstraksi sehingga dapat menghasilkan yield dan kemurnian minyak alga yang tinggi. Selain itu bertujuan menggali potensi minyak alga sebagai salah satu alternatif bahan baku pembuatan biodiesel dengan mengetahui kandungan senyawa-senyawa dalam minyak alga beserta sifat-sifat fisik yang dimilikinya. Manfaat dari penelitian adalah diperoleh informasi tentang penelitian pemanfaatan minyak alga dari *Spirulina* Sp. sebagai salah satu alternatif bahan baku pembuatan biodiesel.

Metodologi Penelitian

• Perkolasi

Metode perkolasi ini dilakukan dengan menggunakan etanol p.a (99,8%) sebagai pelarutnya. Sepuluh gram bahan kering *Spirulina* Sp. digunakan untuk setiap variabel jumlah pelarut (75, 150 dan 200 mL). Perkolasi dilakukan skala laboratorium dengan peralatan perkolasi sederhana berkapasitas 300 mL pada suhu ruang. *Spirulina* Sp. dan etanol direndam sesuai variabel waktu (3 dan 6 jam), setelah waktu terpenuhi, disaring dan ditampung filtratnya. Filtrat ditambahkan masing-masing 75 mL aquadest dan n-heksan untuk membentuk dua fase: fase heksan dan hidroalkoholik, dimana fase heksan didistilasi dan didapatkan ekstrak (minyak alga), **Gambar 1**.



Gambar 1. Diagram alir metode perkolasi dengan pelarut etanol (99,8%)

Osmotik

Metode ini dilakukan dengan menggunakan pelarut HCl (0,5; 1,5; 3 dan 5 M). Ekstraksi osmotik dilakukan skala laboratorium menggunakan labu leher tiga dilengkapi dengan kondensor refluks, pengaduk magnetik, dan termometer dengan mencampurkan 10 g serbuk *Spirulina Sp.* untuk setiap variabel pelarut yang telah ditentukan (75, 150, dan 200 mL). Ekstraksi osmotik dilakukan pada suhu kamar. Setelah proses ekstraksi selesai, campuran larutan disaring untuk memisahkan minyak terlarut dari residunya. Filtrat yang diperoleh, dimurnikan dengan menambahkan 32 mL n-heksan dan 60 mL aquadest hingga terbentuk dua lapisan cair-cair. Evaporasi dilakukan pada lapisan n-heksan untuk menguapkan pelarutnya sehingga diperoleh minyak alga (Fajardo

et.al., 2007). Selain itu, metode osmotik ini juga dilakukan untuk 75 mL larutan HCl dengan memvariasikan waktu perendaman (60, 90, 120, 150 dan 180 menit), **Gambar 2**.

• Metode Analisa

Minyak alga dianalisa menggunakan gas kromatografi suhu tinggi GC HP 5890A Series II gas kromatografi dilengkapi FID untuk diketahui komposisinya. Kolom yang digunakan DB-5HT (5%-phenyl)-methylpolysiloxane (6 meter X 0,32 mm). Suhu injektor dan detektor diset pada 365 dan 370°C. Suhu kolom 80°C pada kondisi awal, meningkat hingga 370°C dengan laju 15°C/min serta dijaga tetap pada 370°C selama 10 menit. Split ratio yang digunakan 1:50 dengan gas pembawa: nitrogen dan tekanan 60 kPa (British Standard International, BSEN 14105:2003). Kandungan protein dinyatakan sebagai prosen nitrogen dan dianalisa dengan metode Kjeldahl.

Hasil dan Pembahasan

• Pengaruh pelarut NaOH dan HCl terhadap perolehan yield minyak alga

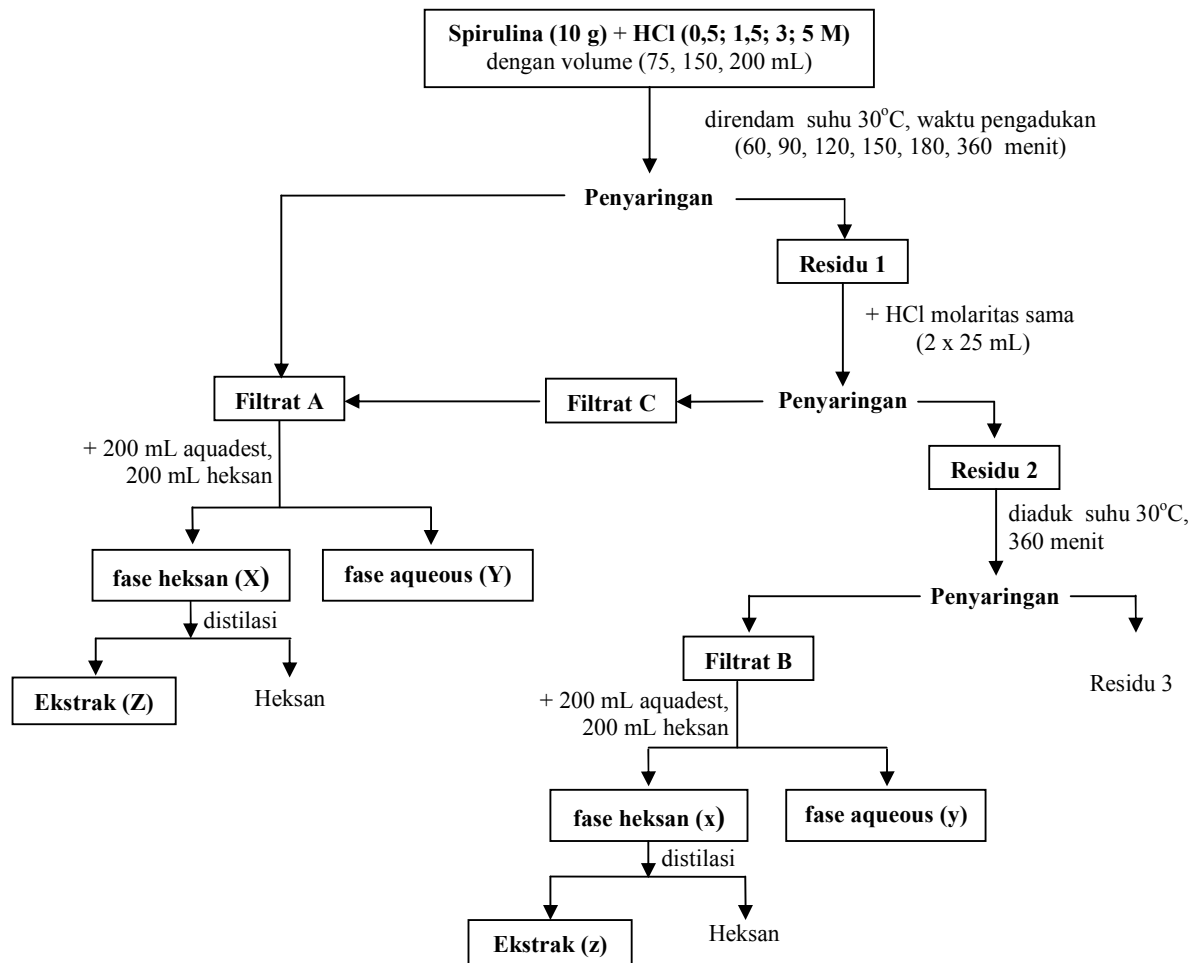
Metode ekstraksi secara osmotik dilakukan dengan menggunakan dua jenis pelarut yaitu, pelarut NaOH dan HCl. Hasil penelitian menunjukkan pelarut NaOH tidak dapat digunakan sebagai pelarut karena ekstrak minyak yang diperoleh membentuk emulsi sehingga menyulitkan proses pemurnian minyak alga. Sistem emulsi terbentuk akibat ikut terekstraknya protein bersama minyak dan akhirnya rusak dalam suasana basa (OH⁻). Protein yang gugus asam aminonya bersifat basa seperti arginin, lisin dan histidin membentuk muatan positif jika berada dalam lingkungan basa (Fessenden dan Fessenden, 1997). Saat penggunaan pelarut HCl didapatkan hasil yang berbeda dibanding saat digunakan pelarut NaOH. Hal ini dimungkinkan akibat kandungan protein dalam *Spirulina* lebih bersifat basa daripada asam sehingga tidak terjadi pengendapan dan *gelling* protein, sebagaimana yang terjadi pada pelarut NaOH.

Spirulina memiliki kandungan protein yang tinggi, 60-70%-berat. Protein tersebut memiliki sifat *gelling* (membentuk gel) dengan konsentrasi kritis *gelling* sebesar 1,5% w/w dalam suatu larutan *aqueous* (Chronakis et. al., 2000). Selain itu, terdapat pula sifat hidrofobik yang dimiliki oleh struktur kompleks protein. Adanya ikatan disulfida pada struktur protein *Spirulina*, menyebabkan adanya sifat hidrofobik pada struktur. Interaksi hidrofobik inilah yang menstabilkan sistem gel pada protein *Spirulina* (Chronakis et. al., 2000). Mengingat tingginya konsentrasi protein *Spirulina* maka konsentrasi kritis *gelling* tersebut terlewati dan akhirnya diperoleh ekstrak minyak berupa gel yang tidak dapat dimurnikan pada proses pemisahan.

Tingginya kandungan protein dalam *Spirulina sp.* selain menimbulkan masalah emulsi pada proses pemisahan, adanya protein juga turut mempengaruhi sifat fisik minyak alga itu sendiri. Minyak alga hasil

ekstraksi soxhlet dengan pelarut n-heksan memiliki densitas 0,77436 g/mL. Nilai densitas tersebut berbeda jika dibandingkan dengan densitas minyak

Ekstraksi dengan pelarut HCl menunjukkan terjadinya kenaikan yield minyak alga seiring peningkatan molaritas pelarut yang digunakan



Gambar 2. Diagram alir metode osmotik dengan pelarut HCl

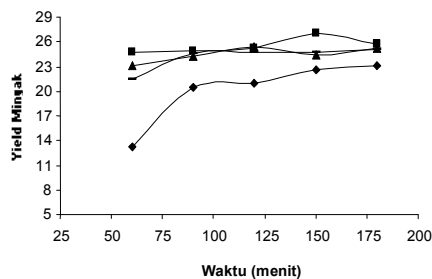
berkandungan *fatty acid* tinggi (berkisar 0,8-0,9 g/mL). Hal tersebut dimungkinkan adanya protein yang terikut dalam proses ekstraksi sehingga mempengaruhi nilai densitas minyak alga yang diperoleh. Hasil analisa kjehdal untuk uji protein sebagai unsur nitrogen pada minyak alga terekstrak menunjukkan adanya unsur nitrogen cukup tinggi 24,5 mg/mL pada minyak alga hasil soxhletasi. Selain itu, Tabel 3 turut menunjukkan adanya ~63% komponen lain yang terekstrak selain *fatty acid* (FA), monogliserida (MG), digliserida (DG) dan trigliserida (TG) pada minyak alga hasil soxhletasi.

(Gambar 3). Molaritas pelarut yang tinggi menunjukkan sedikitnya kandungan air dan banyaknya kandungan HCl dalam larutan tersebut. Tingginya kandungan asam (zat terlarut) dan pelarut (air) akan mempengaruhi tekanan osmotik sel

Spirulina. Jika sel (*Spirulina*) berada pada media hipotonik (media dengan kadar *solute* lebih rendah dibandingkan kadar dalam sel), air dalam media akan masuk ke dalam sel melalui membran semipermeabel sehingga sel akan membengkak dan pecah. Hal yang sebaliknya akan terjadi, jika sel berada pada media hipertonik. Kandungan air dalam sel akan keluar sel melalui membran dan akhirnya sel akan

mengerut/plasmolisis. Proses pecah dan kerutnya sel akibat perbedaan konsentrasi media inilah yang dimanfaatkan untuk dapat mengekstrak minyak dari sel *Spirulina* dengan metode osmotik.

Terjadinya plasmolisis pada sel *Spirulina* akan mengekstrak lebih banyak minyak dari kantong-kantong minyak dalam sel ditunjukkan dengan semakin banyaknya minyak terekstrak pada pelarut HCl molaritas tinggi (**Gambar 3**). Kadar asam yang kurang (jumlah zat terlarut minimal), akan memperkecil jumlah minyak terekstrak karena tekanan osmotik dalam sel tidak terganggu. Sehingga sel tidak mengalami gangguan (baik gembung ataupun lisis) dan akhirnya minyak yang terekstrak tidak maksimal. Pada beberapa kasus, pemecahan sel diperlukan untuk membuat penetrasi *solvent* ke dalam sel lebih baik, sehingga akan meningkatkan yield yang diinginkan (Medina et. al., 1998). Mengingat letak sel penyimpan energi (minyak) berada dalam mitokondria yang sulit ditembus oleh pelarut. Pada penggunaan HCl 0,5M, volume 75 mL, yield minyak yang diperoleh sebesar 23,065%-berat sedangkan pada HCl 5 M dengan volume yang sama, diperoleh 25,706%-berat.

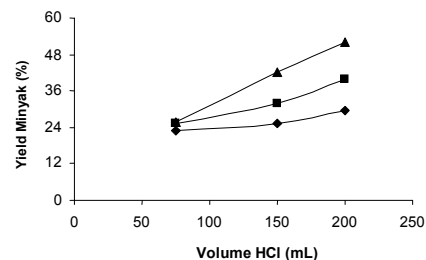


Gambar 3. Yield minyak alga (%-berat) hasil ekstraksi (osmotik) menggunakan pelarut HCl berbagai molaritas dan waktu pengadukan yang berbeda (♦ 0,5 M; ■ 1,5 M; ▲ 3 M dan ■ 5 M).

Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin besar volume pelarut semakin besar pula minyak yang didapat. Hal ini disebabkan dengan semakin banyaknya pelarut maka semakin besar medium untuk terjadinya distribusi minyak dari sel *Spirulina* kedalam pelarut, sehingga kejenuhan dari perpindahan minyak dapat dicegah.

• Pengaruh pelarut Etanol terhadap perolehan yield minyak alga

Ekstraksi menggunakan pelarut etanol p.a memberi yield minyak lebih tinggi dibandingkan dengan yield yang diperoleh saat menggunakan pelarut HCl. Yield minyak alga yang diperoleh dengan pelarut etanol p.a, 75 mL, 3 jam waktu perkolasi sebesar 76,584% sedangkan untuk pelarut HCl 5 M dengan jumlah pelarut dan waktu perendaman yang sama diperoleh yield minyak sebesar 25,706%. Selain itu, minyak terekstrak hasil metode perkolasi berwarna hijau. Hal ini menunjukkan ikut terekstraknya zat warna hijau (klorofil) *Spirulina* oleh etanol.



Gambar 4. Yield minyak alga hasil ekstraksi (osmotik) menggunakan pelarut HCl yang diperoleh pada berbagai volume HCl dengan waktu pengadukan 3 jam (♦ 0,5 M; ■ 3 M dan ▲ 5 M).

Tabel 1. Yield minyak (%) hasil ekstraksi dengan pelarut etanol (99,8%) pada berbagai volume.

Volume pelarut (mL)	Yield Minyak (%-berat)	Kandungan air % (fase hidroalkoholik/Q)
75	76,584	37,63%
150	36,520	27,42%
200	22,664	23,23%

Fajardo et. al., (2007) menjelaskan bahwa kandungan air pada fase hidroalkoholik (Q) sebesar 40% memberikan yield minyak yang optimal. Saat penggunaan 75 mL etanol, kandungan air mencapai 37,63%, sedangkan saat digunakan 150 mL etanol kandungan airnya 27,42% dan untuk 200 mL etanol kandungan airnya hanya 23,23%. Hal inilah yang menyebabkan yield minyak pada penggunaan etanol 75 mL lebih besar (76,584%-berat) dibandingkan dengan yield minyak alga dari etanol 150 mL (36,520%-berat), dan 200 mL (22,664%-berat) (**Tabel 1**). **Tabel 1** menunjukkan semakin besar volume pelarut etanol maka semakin kecil yield minyak yang diperoleh. Sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya, tingginya kandungan air pada fase hidroalkoholik (Q), **Gambar 1**, akan menurunkan yield ekstraksi lipid akibat terbentuknya emulsi. Adanya emulsi antara minyak dan etanol akan mempersulit proses pemisahan. Kadar air dalam fase hidroalkoholik (Q) harus diperhatikan karena dengan kadar air tinggi (>40%) menyebabkan sulit terbentuknya dua fase (fase heksan dan fase hidroalkoholik). Saat kadar air di fase hidroalkoholik >40%, dua fase akan terbentuk setelah *crude* ekstrak ditambahkan heksan dan aquadest dan didiamkan selama ± 2 hari. Selain akibat adanya pengaruh kadar air di fase hidroalkoholik (Q), perolehan yield minyak alga turut disebabkan rusaknya kompleks lipid-protein dan putusannya rangkaian lipid oleh pelarut etanol. Pelarut jenis alkohol ikut mengekstrak beberapa kontaminan seperti gula, asam amino, garam-garam, dan pigmen (Medina et. al., 1998).

Tabel 2 menunjukkan yield minyak bertambah seiring dengan peningkatan waktu

perkolasi. Waktu perkolasi yang lebih lama akan memaksimalkan kontak antara pelarut (etanol) dengan zat terlarutnya sehingga akan semakin banyak jumlah minyak yang berhasil terekstrak oleh pelarut. Demikian pula jika gunakan pelarut HCl (**Tabel 2**). Akan tetapi, yield minyak akan konstan setelah 20 jam ekstraksi (Fajardo et. al., 2007).

• **Pengaruh jenis pelarut terhadap zat warna yang terekstrak**

Jenis pelarut yang digunakan turut mempengaruhi zat warna yang terekstrak, mengingat *Spirulina* sp. memiliki berbagai macam zat warna yang dapat dibagi menjadi tiga kelompok: (1) klorofil; (2) karotenoid dan xantofil; dan (3) pikobiliprotein yaitu: c-pikosianin dan allopikosianin (Chronakis et. al., 2000).

Tabel 2. Yield minyak (%) hasil ekstraksi dengan pelarut etanol (99,8%) dan HCl 5 M sebanyak 75 mL dengan waktu perendaman 3 dan 6 jam.

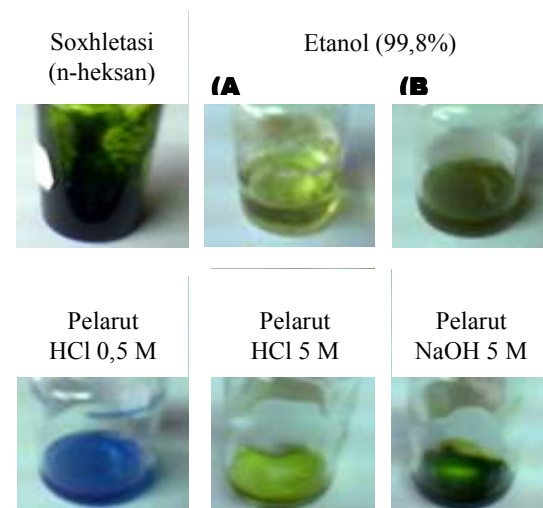
Kondisi perkolasi	Waktu perendaman (jam)	Yield minyak (%-berat)
Etanol p.a	3	76,584%
	6	77,236%
HCl 5M	3	25,706%
	6	71,236%

Warna minyak alga hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut ditampilkan pada **Gambar 5**. Minyak berwarna hijau didapatkan saat digunakan pelarut n-heksan (soxhletasi), etanol (99,8%), HCl 5 M dan NaOH 5 M. Minyak berwarna biru hanya didapatkan saat digunakan HCl 0,5 M sebagai pelarut. Warna biru dari zat warna pikosianin (Chronakis et. al., 2000) ikut terekstrak saat digunakan pelarut HCl 0,5 M. Terekstraknya zat warna biru pikosianin juga menunjukkan ikut terekstraknya protein saat digunakan pelarut HCl 0,5 M, mengingat pikosianin umumnya berupa protein seluler yang merupakan zat warna dominan dari *Spirulina* sp. (Chronakis et. al., 2000). Namun konsentrasi protein terekstrak tidak melampaui konsentrasi kritis *gelling* dari protein sehingga tidak terbentuk emulsi sebagaimana saat digunakan pelarut NaOH.

Warna ekstrak yang berbeda didapatkan saat digunakan pelarut n-heksan, etanol (99,8%), HCl 5 M dan NaOH 5 M. Saat digunakan jenis pelarut tersebut di atas, diberikan warna hijau pada minyak (**Gambar 5**). Adanya warna hijau tersebut menunjukkan ikut terekstraknya zat warna hijau atau klorofil dari *Spirulina* sp. bersama-sama dengan komponen-komponen minyak. Saat digunakan pelarut etanol dan

HCl 5 M, warna hijau yang diperoleh tidak sepekat saat digunakan pelarut n-heksan dan NaOH 5 M. Warna hijau-kekuningan yang diperoleh dimungkinkan akibat ikut terekstraknya zat warna kuning, karotenoid, dari *Spirulina* sp. (Chronakis et. al., 2000).

Kelompok *cyanobacteria* (ganggang hijau-biru, seperti *Spirulina*) memiliki fikobiliprotein sebagai sel utuh yang bergabung dengan permukaan membran sitoplasma dari thilakoid dalam kloroplas. Sehingga sewaktu sel pecah atau kerut/lisis, fikobiliprotein memisah menjadi beberapa warna, berpendar, menjadi subkompleks yang larut dalam air dan pengikat polipeptida. Namun pada dasarnya, zat warna tersebut tidak mengganggu kualitas minyak yang diperoleh (Chronakis et. al., 2000).



Gambar 5. Warna minyak terekstrak pada berbagai jenis pelarut. (A) minyak terekstrak menggunakan pelarut etanol dengan penambahan (1) aquadest + (2) n-heksan; (B) minyak terekstrak menggunakan pelarut etanol dengan penambahan (1) n-heksan + (2) aquadest.

Gambar 5A dan **B** menunjukkan kondisi minyak alga terekstrak yang berbeda saat digunakan pelarut etanol (99,8%). **Gambar 5A** adalah minyak alga terekstrak dengan penambahan aquadest terlebih dahulu dibandingkan penambahan n-heksan pada tahap pemisahan (**Gambar 2**) sedangkan **Gambar 5B** adalah sebaliknya. Jika ditambahkan aquadest terlebih dahulu pada proses pemisahan, pemisahan dua *layer* (pemisahan cair-cair) antara fase etanol dan fase n-heksan berjalan lebih lambat akibat terbentuknya emulsi (terdispersinya minyak pada fase etanol), terlihat pada **Gambar 5A**. Sedangkan jika penambahan n-heksan dilakukan terlebih dahulu, maka emulsi tidak terbentuk. Fenomena ini terjadi dimungkinkan karena sistem air/aquadest-n-heksan-etanol memiliki tipe kelarutan parsial misibel antara air-n-heksan (Grima et al., 1994). Sehingga dalam

pemisahan minyak alga perlu diperhatikan kelarutan antara ketiga komponen tersebut (air/aquades-n-heksan-etanol).

• **Pengaruh jenis pelarut terhadap komponen terekstrak**

Minyak alga dianalisa menggunakan gas kromatografi suhu tinggi GC HP 5890A Series II gas kromatografi dilengkapi FID untuk diketahui komposisinya (FA, MG, DG dan TG). Kolom yang digunakan DB-5HT (5%-phenyl)-methylpolysiloxane (6 meter X 0,32 mm). Suhu injektor dan detektor diset pada 365 dan 370°C. Suhu kolom 80°C pada kondisi awal, meningkat hingga 370°C dengan laju 15°C/min serta dijaga tetap pada 370°C selama 10 menit. Split ratio yang digunakan 1:50 dengan gas pembawa: nitrogen dan tekanan 60 kPa (British Standard International, BSEN 14105:2003). Hasil yang diperoleh ditampilkan pada **Tabel 3** berikut.

Hasil analisa menunjukkan hanya ~26% FA dan ~2% TG (%-berat) yang berhasil diekstrak dengan menggunakan pelarut n-heksan dari kandungan lemak rata-rata 40% (www.oilalgae.com). Selain itu, pada metode osmotik untuk pelarut HCl 5 M memberikan komponen FA terekstrak lebih tinggi, ~66%-berat dibandingkan komponen trigliseridanya. Metode osmotik memberikan komponen terekstrak FA dan TG tinggi dibandingkan jika digunakan pelarut n-heksan. Hal tersebut menunjukkan bahwa metode osmotik berhasil mengekstrak komponen minyak lebih besar dibandingkan metode perkolasi, mengingat timbulnya plasmolisis pada sel *Spirulina* akibat terganggunya tekanan osmotik sel. Walaupun, yield perolehan minyak alga secara perkolasi (pelarut etanol) memberikan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan yield minyak secara osmotik. Terekstraknya komponen minyak (FA dan TG) yang lebih tinggi pada metode osmotik dikarenakan terjadinya plasmolisis pada sel *Spirulina*, sehingga butiran-butiran minyak (FA) terekstrak keluar akibat mengkerutnya membran sel. Sedangkan komponen trigliserida yang terletak pada mitokondria sangat sulit terekstrak (Medina et al., 1998), didukung dengan kecilnya jumlah komponen TG terekstrak dibandingkan komponen FA baik pada larutan HCl 3 ataupun 5 M (**Tabel 3**).

Tabel 3. Komposisi minyak alga pada berbagai jenis pelarut

Jenis pelarut	Komponen (%-berat)				Lain-lain
	fatty acids	monogliserida	digliserida	trigliserida	
n-heksan	25,95	6,61	2,53	1,99	62,92
p.a					
HCl 3	54,89	1,56	2,42	0,33	40,81
M					
HCl 5	65,57	2,01	3,43	0,51	28,48
M					

Jenis pelarut yang digunakan, pada metode perkolasi, mempengaruhi jenis komponen yang

terekstrak. Mengingat kelompok alga memiliki berbagai macam kandungan lipid. Dimana kandungan komponen-komponen lipid dalam alga diklasifikasikan menjadi dua kelompok: lipid netral dan lipid polar (Medina et al., 1998). FA, TG, wax ester (WE), hidrokarbon (HC) dan sterol termasuk dalam kelompok lipid netral, sedangkan fosfolipid dan glikolipid termasuk dalam lipid polar (Medina et al., 1998). Jenis *Spirulina plantensis* mengandung 77% netral lipid, 15,6% glikolipid dan 7,4% fosfolipid dari total fraksi lipidnya, dimana netral lipidnya mengandung mono-, di-asilgliserida, HC, klorofil dan karotenoid (Sajilata et al., 2008). Hasil penelitian menggunakan *Spirulina sp.* menunjukkan komponen terekstrak pada **Tabel 3** Komponen lain-lain pada **Tabel 3** diperkirakan sebagai lipid polar (fosfolipid dan glikolipid) dan zat warna yang tidak terdeteksi oleh HTGC dengan *setting* yang sama untuk mendeteksi FA, MG, DG, dan TG.

Untuk meningkatkan perolehan komponen terekstrak TG (lipid netral), penelitian juga dilakukan dengan memvariasikan jenis kepolaran pelarut menggunakan kloroform dan metanol. Grima et al. (1994) mengisolasi *polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) dari *Isochrysis galbana* dengan sistem *solvent* $\text{Cl}_3\text{CH}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 1:2:0,8$ v/v/v, etanol (96%) dan heksan/etanol (96%) = 1:2,5 v/v dengan yield berturut-turut 93,8%, 84,4% dan 79,6%. Demikian pula penelitian yang dilakukan oleh Medina et al. (1998), berhasil mengekstrak PUFAs dari mikroalga dengan sistem *solvent* $\text{Cl}_3\text{CH}/\text{MeOH} = 2:1$ v/v dan $\text{Cl}_3\text{CH}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 1:2:0,8$ v/v/v. Untuk mencegah timbulnya emulsi, Medina et al. (1998) memisahkan terlebih dahulu residu biomassa sebelum dilakukan penambahan n-heksan.

Sistem pelarut dan metode pemisahan yang dilakukan oleh Grima et al. (1994) dan Medina et al. (1998) juga diadaptasi dalam penelitian ini, namun tidak diperoleh hasil yang diinginkan. Hanya diperoleh sedikit minyak terekstrak dan proses pemisahan sulit dilakukan akibat timbulnya emulsi (data tidak ditunjukkan). Hal tersebut dimungkinkan akibat berbedanya jenis mikroalga yang diteliti, mengingat jenis alga yang berbeda memiliki kandungan komponen yang berbeda pula. Penelitian ini juga dilakukan dengan menggunakan kloroform sebagai *solvent*, namun hasil yang diperoleh sama dengan jika kita menggunakan sistem *solvent* $\text{Cl}_3\text{CH}/\text{MeOH} = 2:1$ v/v dan $\text{Cl}_3\text{CH}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 1:2:0,8$ v/v/v.

Kesimpulan

1. Ekstraksi minyak alga dengan pelarut etanol (99,8%) (77,236%-berat) memberi yield minyak lebih besar dibandingkan dengan pelarut HCl 5 M (71,218%-berat).
2. Semakin banyak volume pelarut yang digunakan, semakin lama waktu pengadukan,

- dan semakin tinggi molaritas larutan maka semakin meningkat perolehan yield minyak kecuali pada metode perkolasi.
3. Kadar air pada fase hidroalkoholik (Q) dan waktu perendaman mempengaruhi perolehan yield minyak untuk metode perkolasi dengan pelarut etanol (99,8%). Kadar air 37,63% pada fase hidroalkoholik (Q) memberi yield minyak sebesar 76,584%-berat.
 4. Jenis pelarut yang digunakan mempengaruhi zat warna *Spirulina* Sp. yang terekstrak dan komposisi dari komponen-komponen terekstrak (FA, MG, DG, dan TG).
- DAFTAR PUSTAKA**
- Chronakis, Ioannis S., Anca Nicoleta Galatanu, Tommy Nylander, and Björn Lindman. 2000. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain Pacifica) at the air:water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 173:181-192.
- Fajardo, A.R., L. Esteban Cerban, A. Robles Medina, F.G.Acién Fernandez, P.A.G.Moreno, and E. Molina Grima.2007. Lipid extraction from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Eur.J.Lipid Sci.Technol.*109:120-126.
- Fessenden, Ralp J., and Joan S. Fessenden. 1997. **Dasar-dasar kimia organik**. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Grima, E. Molina, Medina, Robles A., Gimenez, A. Gimenez, Perez, J.A. Sanchez, Camacho, F. Garcia, and J.L. Garcia Sanchez. 1994. Comparison between extraction of lipids and fatty acids from microalgal biomass. *JAOCS* 71:955-959.
- Medina, Robles A., E. Molina Grima, A. Gimenez Gimenez, and M. J. Ibanez Gonzalez. 1998. Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids. *Biotechnology Advances* 16:517-580.
- Mühling, Martin, Amha Belay and Brian A. Whitton. 2005. Variation in fatty acid composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains. *Journal of Applied Phycology* 17:137-146.
- Oliveira, M.A.C.L. De, M.P.C.Monteiro, P.G.Robbis, and S.G.F.Leite. 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina plantesis* biomas at different temperatures. *Aquaculture International* 7:261-275.
- Pramparo, M., S. Gregory, and M. Mattea. 2002. Immersion vs percolation in the extraction of oil from oleaginous Seeds. *JAOCS* 79:955-960.
- Rekayasa Industri, PT. 2006. Status Perkembangan Biodiesel Indonesia. *Simposium Biodiesel Indonesia*. September. Jakarta.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., and Kamat, M.Y. 2008. Fractionation of lipids and purification of α -linolenic acid (GLA) from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry* 109:580-586.
- Schultz, Thomas. Desember 2006. The economics of micro-algae production and processing into bioiesel. *Research Report*. Department of Agriculture and Food of Western Australia.
- Tropis, Marielle, Fabienne Bardou, Beate Bersch, Mamadou Daffé, and Alain Milon. 1996. Composition and phase behaviour of polar lipids isolated from *Spirulina maxima* cells grown in a perdeuterated medium. *Biochimica et Biophysica* 1284:196-202.
- www.oilalgae.com
www.bppt.go.id
www.energi.lipi.go.id
www.wikipedia.org/osmosis
www.wikipedia.org/percolation